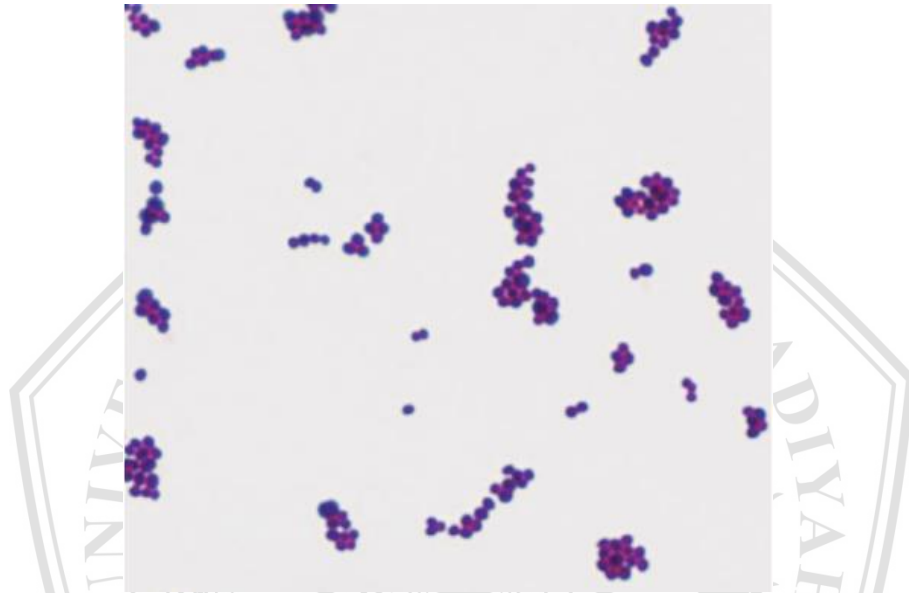


BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Staphylococcus aureus*

2.1.1 Klasifikasi Bakteri



Gambar 2.1 *Staphylococcus aureus* (Jawetz, 2013)

Taksonomi *Staphylococcus aureus* sebagai Divisi Protophyta Kelas Bacilli, Ordo Bacillales, Famili Staphylococcaceae Genus Staphylococcus dan Spesies *Staphylococcus aureus* (Vasanthakumari, 2007).

2.1.2 Morfologi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram-positif yang berdiameter 0,5-1,5 μ , tidak membentuk spora dan tidak bergerak. Pada media biakan, bakteri ini berbentuk bulat yang terlihat tunggal, berkelompok atau bahkan dapat tersusun seperti rantai . Beberapa strain dari bakteri ini memiliki kapsul. (Vasanthakumari, 2007)

Bakteri ini pertama kali diamati dan dibiakan oleh Pasteur dan Koch, kemudian diteliti secara lebih terinci oleh Ogston dan Rosenbach pada era tahun 1880-an. Nama genus *Staphylococcus* diberikan oleh Ogston karena bakteri ini, pada pengamatan mikroskopis berbentuk seperti setangkai buah anggur, sedangkan nama spesies *aureus* diberikan oleh Rosenbach karena pada biakan murni, koloni bakteri ini terlihat berwarna kuning-keemasan. Rosenbach juga mengungkapkan bahwa *S. aureus* merupakan penyebab infeksi pada luka dan furunkel. Genus *Staphylococcus* dibagi menjadi 32 spesies. (Montville and Matthews 2008; FDA 2012).

Pertumbuhan dan kelangsungan hidup *Staphylococcus aureus* tergantung pada sejumlah faktor lingkungan seperti suhu, aktivitas air, pH, adanya oksigen dan komposisi makanan. Parameter pertumbuhan fisik bervariasi untuk berbagai strain *Staphylococcus aureus*. Kisaran suhu untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah 12-44°C, dengan optimum 37°C. (Kumar, 2012). *Staphylococcus aureus* resisten terhadap pembekuan dan bertahan dengan baik dalam makanan yang disimpan di bawah -20°C. Namun, kelangsungan hidup berkurang pada suhu -10 sampai 0°C. *Staphylococcus aureus* mudah mati dalam pasteurisasi atau memasak. Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* terjadi pada pH optimal 7,4. *Staphylococcus aureus* adalah anaerob fakultatif sehingga dapat tumbuh di kondisi aerobik dan anaerobik. Namun, pertumbuhan terjadi pada tingkat yang lebih lambat dalam kondisi anaerob (Vasanthakumari, 2007)

2.1.2.1 Kapsul dan *Slim Layer*

Kapsul merupakan lapisan terluar dari dinding sel yang tersusun dari polisakarida. Kapsul ini berfungsi untuk menghambat kerja fagosit melalui

polymorphonuclear leukocytes (PMNs). Pada bagian ini juga terdapat *slime layer* yang merupakan bagian ekstraselular larut air yang tersusun dari monosakarida, protein dan peptida. *Slime layer* memungkinkan bakteri untuk menempel pada benda lain seperti jaringan ataupun peralatan medis. (Murray *et al*, 2013)

2.1.2.2 Dinding Sel

Dinding sel merupakan struktur yang memberikan bentuk sel dan dapat mencegah terjadinya kerusakan pada sel. Dinding sel *Staphylococcus aureus* tersusun dari lapisan peptidoglikan, teicoic acid, dan lipoprotein acid. Lapisan paling tebal dari dinding sel adalah peptidoglikan yang tersusun dari *N-acetylmuramic* dan *N-asetilglusonamine*. Pada bagian ini penicillin binding ptotein yang merupakan target kerja dari penisilin dan antibiotik beta laktam lainnya. (Murray *et al*, 2013)

2.1.2.3 Membran Sitoplasma

Membran sitoplasma terdiri dari kompleks protein, lipid dan sejumlah kecil karbohidrat. itu berfungsi sebagai penghalang osmotik untuk sel dan menyediakan pelabuhan untuk biosintesis sel dan enzim pernapasan. (Murray *et al*, 2013)

2.1.3 Struktur Antigenik

a. Antigen Kapsuler

Ada beberapa strain *Staphylococcus aureus* yang berkapsul dan bakteri tersebut lebih virulent dari pada yang tidak berkapsul. Kapsul polysakarida menghambat fagositosis dan memfasilitasi organisme ke sel inang (Vasanthakumari, 2007).

b. Antigen dinding sel

1. Dinding sel terdiri peptidoglikan asam teikoik dan protein A.
2. Polisakarida peptidoglikan memberikan kekakuan dan integritas ke sel. Hal tersebut akan mengaktifkan komplemen dan menginduksi pelepasan sitokin inflamasi.
3. Asam teikoik adalah kelompok spesifik penentu antigenik semua strain *Staphylococcus aureus*. Hal tersebut memperkenankan terjadinya adhesi kokus ke permukaan sel inang dan melindungi mereka dari dari komplemen dimediasi opsonisasi.
4. Protein A dari dinding memiliki kemotaktik, antiphagocytic dan sifat anticomplementary. Hal itu mengikat ke terminal FC molekul IgG meninggalkan wilayah Fab bebas untuk menggabungkan dengan antigen spesifik dan memulai koaglutinasi.

2.1.4 Patogenesis

S.aureus adalah patogen penting dan lesi umumnya terlokalisasi. Koagulase enzim dan toksin yang diproduksi oleh *S.aureus* menghambat fagositosis dan membentuk dinding bekuan fibrin di sekitar lesi. Beberapa enzim tersebut adalah katalase, koagulase, hyaluronidase, staphylokinase, lipase dan deoxyribonuclease serta toksin yang dihasilkan yaitu haemolysins (alpha, beta, gamma dan delta), leucocidins, toksin eksfoliative, toksin sindrom syok toksin dan enterotoksin. Infeksi stafilokokus diklasifikasikan sebagai infeksi cutaneus, infeksi dalam dan toksin dimediasi. (Vasanthakumari, 2007)

Katalase merupakan enzim yang dimiliki oleh *Staphylococcus aureus* yang mengubah hidrogen peroksidase menjadi air dan oksigen. Koagulase merupakan

enzim yang pembekuan plasma pada manusia dan kelinci. Hialuronidase menghidrolisis asam hyaluronic dalam jaringan ikat dan memfasilitasi penyebaran infeksi. Stafilokinase merusak pembekuan fibrin dan memungkinkan penyebaran organisme ke jaringan-jaringan yang berdekatan. Lipase menghidrolase lipid membantu organisme dalam menginfeksi kulit dan jaringan subkutan. Deoksiribonuklease dapat menghidrolisis DNA (Vasanthakumari, 2007).

Haemolisin pada *Staphylococcus aureus* memiliki empat tipe antigen yaitu alpha haemolisin yang dapat melisiskan sel darah merah kelinci dan kambing, beta haemolisin dapat melisiskan sel darah domba dan sapi, gamma haemolisin merupakan haemolisin yang terlemah dan delta haemolisin dapat melisiskan sel darah merah manusia, kelinci dan domba (Vasanthakumari, 2007).

Leuksidin disebut juga sebagai toksin panton-valentine. Toksin ini memiliki dua komponen yang bekerja secara sinergis pada sel darah putih membentuk pori-pori dan meningkatkan permeabilitas kation. Toksin eksfoliatif merupakan toksin epidermologi yang terdiri dari dua protein yang berbeda dengan berat molekul yang sama yaitu epidermiologi A dan epidermiologi B. Toksin ini merupakan penyebab penyakit *staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS)*. Toksin Indrom Syok Toksin merupakan toksin yang diproduksi oleh strain bakteri group 1 yang dapat menyebabkan demam, hipotensi, muntah, eritema dan deskuamatif pada kulit. Enterotoksin adalah toksin yang dikeluarkan oleh *Staphylococcus aureus* yang merupakan penyebab keracunan makanan dengan gejala yang timbul secara mendadak yaitu mual, muntah dan diare. (Vasanthakumari, 2007)

2.1.5 Pertumbuhan Bakteri

Staphylococcus aureus dapat ditemukan pada manusia di hidung, ketiak, area perineal (laki-laki), membran mukosa, mulut, kelenjar mammae, rambut, intestinal, genitourinari dan saluran napas atas. Banyak binatang yang menjadi inang, seperti sapi yang terinfeksi. *S. aureus* merupakan bakteri zoonosis, baik dengan kontak direk maupun tidak dengan binatang yang terinfeksi, namun tanpa adanya vektor (Public Health Agency of Canada, 2011).

Mode transmisi yaitu dapat melalui masuknya makanan yang mengandung enterotoksin. Transmisi dari manusia ke manusia dapat terjadi melalui kontak dengan lesi purulen atau dengan seorang pembawa. Kondisi kebersihan yang rendah dan komunitas yang padat dapat meningkatkan paparan terhadap *S. aureus*. Infeksi dapat menyebar dari manusia ke manusia melalui tenaga kesehatan atau pasien. Kolonisasi nasal dapat menyebabkan autoinfeksi (Public Health Agency of Canada, 2011).

Periode inkubasi bakteri dengan onset gejala setelah mengonsumsi makanan yang terkontaminasi biasanya 30 menit hingga 8 jam. Koloni *S. aureus* dapat terbawa pada waktu yang tak ditentukan; beberapa individu dapat menjadi pembawa (*carrier*) secara kronik, namun, beberapa individu menjadi pembawa (*carrier*) secara akut (Public Health Agency of Canada, 2011).

2.1.6 Diagnosis Laboratorium

Menurut Brooks (2007) ada beberapa tes yang digunakan untuk mendeteksi *Staphylococcus aureus*, antara lain :

a. Spesimen

Hapusan untuk spesimen diambil dari pus, darah, aspirasi trakea ataupun cairan spinal tergantung dari lokasi proses infeksi.

b. Pengecatan Gram

Hasil pengecatan gram *Staphylococcus aureus* akan didapatkan bakteri kokus gram positif yang tersusun dalam kelompok membentuk cluster. Hasil tes ini tidak dapat membedakan *Staphylococcus aureus* dengan bakteri lain dari genus yang sama seperti *Staphylococcus epidermidis*.

c. Kultur

Kultur *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menggunakan media *blood agar plate* (BAP) yang diinkubasi dengan suhu 37°C. Koloni pada kultur terbentuk setelah 18 jam namun produksi pigmen dan hemolisis baru dapat terbentuk setelah beberapa hari. *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasi manitol. Spesimen yang terkontaminasi dengan flora normal dapat diukur dengan menambahkan NaCl 7,5 % yang dapat menghambat flora normal lain selain *Staphylococcus aureus*.

d. Tes Katalase

Tes katalase digunakan untuk mendeteksi adanya enzim sitokrom oksidase. Penambahan hidrogen peroksida 3% pada kultur menghasilkan gelembung udara yang merupakan tanda dari lepasnya oksigen (hasil positif)

e. Tes Koagulase

Tes koagulase dilakukan dengan mencampur plasma yang telah didilusi dengan kultur kuman dan diinkubasi pada suhu 37°C. Kemudian dibuat tabung kontrol yang berisi campuran plasma dengan kultur steril. Apabila dalam 1-4 jam terbentuk *clot* maka hasil tes koagulase dikatakan positif.

2.2 *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

2.2.1 Jenis MRSA

Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan *Staphylococcus aureus* dengan gen yang membuat bakteri ini resisten terhadap semua strain antibiotik beta laktam (EARS, 2013). MRSA pertama kali ditemukan di rumah sakit Boston pada akhir tahun 1960an (Rello, 2010). Bakteri MRSA dapat menyebabkan penyakit infeksi kulit seperti abses, infeksi luka dan jika masuk ke dalam tubuh dapat menyebabkan infeksi septikimia. (Monecke, 2011)

MRSA dibagi menjadi 2 kelompok yaitu *Hospital Acquired* (HA-MRSA) dan *Community Associated* (CA-MRSA). HA-MRSA adalah MRSA yang terdapat pada tempat pelayanan kesehatan medis. HA-MRSA biasanya muncul pada orang yang berusia lanjut, pasien yang memiliki daya tahan tubuh lemah dan pasien yang menggunakan kateter vena. Sedangkan CA-MRSA adalah MRSA yang berada dalam lingkungan masyarakat. Sumber penyebarannya dapat terjadi melalui kontak kulit ke kulit seperti penggunaan benda pribadi seperti handuk dan alat cukur. (Anderson *et al*, 2007)

Perbedaan antara HA MRSA dan CA MRSA tampak pada tabel 2.2. Secara genetik dan fenotipe strain HA-MRSA berbeda dengan strain CA-MRSA. CA-MRSA memiliki komposisi yang lebih kecil mengalami kejadian virulensi yang lebih tinggi, dan jarang terjadi multidrug resistant pada antimikroba non β -laktam (misalnya terhadap tetracyclin, trimetoprim -sulfametoksazol rifampin, clindamycin, dan fluoroquinolone) (Anderson *et al*, 2007)

Tabel 2.1 Perbedaan HA MRSA dan CA MRSA

	HA MRSA	CA MRSA
Kelompok beresiko	Warga di fasilitas perawatan jangka panjang, pasien dengan diabetes mellitus, pasien yang menjalani hemodialisis / peritoneal dialisis, rawat inap lama, unit perawatan intensif masuk, kateter intravaskular	Anak-anak, atlet yang kompetitif, tahanan, tentara, yang dipilih populasi etnis (penduduk asli Amerika / Alaska Pribumi, Kepulauan Pasifik), pengguna narkoba suntikan, laki-laki pun telah berhubungan seks dengan laki-laki
Jenis SCC	Jenis I, II, & III	Jenis IV & V
Jenis regangan	USA 100 & 200	USA 300 & 400
Resistensi antimikroba	Resistensi multidrug, umum	β -lactam resistance sendiri, umum
PVL toksin		
Sindrom klinis yang terkait	Langka (5%) Pneumonia nosokomial, infeksi saluran nosokomial- atau kateter-related urinary, intravaskular kateter atau aliran darah infeksi, infeksi bedah-situs	Sering (hampir 100%) Kulit dan jaringan lunak infeksi (furunkel, abses kulit), pasca influenza nekrotik pneumonia

(Borloug *et al*, 2011), (Kowalski *et al*, 2005)

2.2.2 Faktor-faktor Resiko Terjadinya MRSA

Tabel 2.2 Faktor-faktor risiko untuk terjadinya MRSA

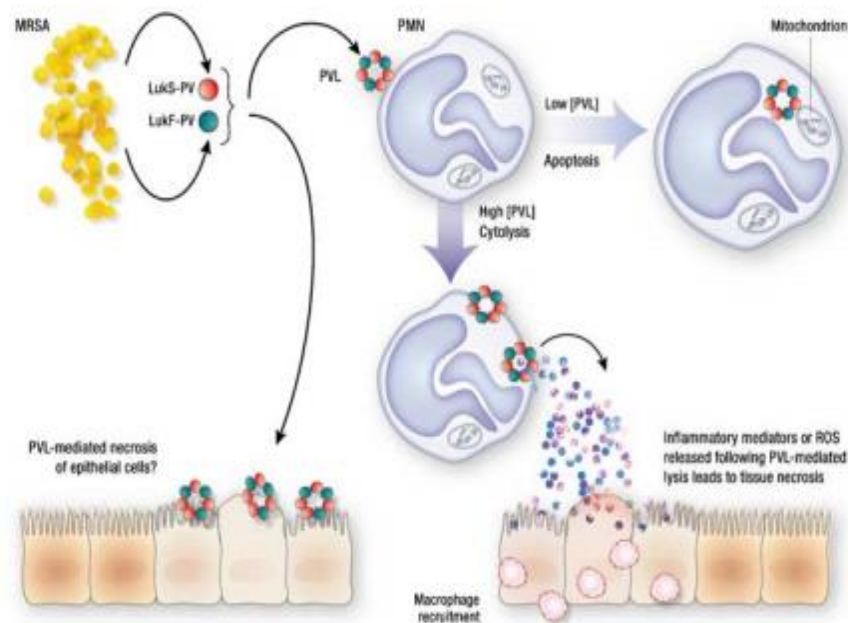
Faktor risiko komunitas masyarakat
<ul style="list-style-type: none"> • Kondisi tempat tinggal yang berdesakan dan kumuh (penjara, barak militer, penampungan gelandangan) • Populasi (penduduk kepulauan pasifik, asli Alaska, asli Amerika) • Kontak olahraga (sepakbola, rugby, gulat) • Laki-laki yang berhubungan seks dengan laki-laki • Berbagi handuk, alat-alat olahraga, barang-barang pribadi • Higiene personal yang buruk
Faktor risiko rumah sakit
<ul style="list-style-type: none"> • Perawatan di rumah sakit sebelumnya (dalam 1 tahun terakhir) • Dilakukan operasi sebelumnya (rawat inap atau rawat jalan dalam 1 tahun terakhir) • Riwayat abses yang rekuren, folikulitis, furunkulosis atau infeksi kulit lainnya • Riwayat infeksi kulit yang rekuren dalam keluarga atau yang tinggal bersama • Terbukti secara laboratorium adanya kasus MRSA dalam keluarga atau yang tinggal bersama • Tinggal di fasilitas perawatan jangka lama atau kontak dengan penghuninya berkali-kali • Pengguna obat intavena • Terpasang kateter • Kondisi medis (misalnya diabetes, HIV, gagal ginjal)

(NEHC, 2005)

2.2.3 Patogenesis CA-MRSA

Penularan utama MRSA adalah melalui kontak langsung antar orang per orang, biasanya dari tangan orang yang terinfeksi atau terkolonisasi. MRSA juga dapat menyebar melalui pemakaian handuk bersama-sama, alat-alat mandi, alat-alat olahraga, baju, alat-alat pengobatan, olahraga dengan kontak langsung, atau ketika adanya wabah yang berasal dari makanan. Setiap dokter atau penyedia layanan kesehatan harus mempertimbangkan infeksi MRSA pada diagnosis bandingnya pada semua pasien dengan adanya gambaran infeksi kulit dan jaringan lunak [skin and soft tissue infection (SSTI)] atau manifestasi gejala lainnya dari infeksi staphylococcus disertai adanya faktor risiko untuk terjadinya MRSA. Gambaran klinik dari SSTI itu biasanya digambarkan dan didiagnosis sebagai “gigitan serangga atau laba-laba” (Spencer & Chukwuma. 2015).

Faktor risiko yang dihubungkan dengan penyebaran CA-MRSA adalah kulit yang terbuka, kondisi tempat tinggal yang kumuh (misalnya tempat penampungan gelandangan), kontak dari kulit ke kulit yang frekuen (misalnya olahraga dengan kontak langsung), kegiatan praktik dengan higiene yang rendah, dan pemakaian alat-alat secara bergantian termasuk alat-alat olahraga, pisau cukur, alat-alat hiasan rambut, dan handuk (Anderson *et al*, 2007).



Gambar 2.2 Patogenesis CA-MRSA (Vavra & Daum, 2007).

Dua komponen dari PVL, yaitu LukS-PV dan LukF-PV disekresi dari *Staphylococcus aureus* dan berbentuk heptamer menempel pada membran polimorf nukleus leukocytes (PMN). Peningkatan konsentrasi PVL menyebabkan lisis dari PMN, sedangkan rendahnya konsentrasi PVL akan mempengaruhi alur apoptosis PMN dengan langsung berikatan pada membran mitokondrial. Nekrosis jaringan dapat merupakan hasil pelepasan reactive oxygen species (ROS) dari PMN yang lisis. PVL tidak dapat menimbulkan nekrotik jaringan secara langsung pada sel epitel.

Strain CA-MRSA secara tipikal mengandung eksotoksin yang dinamakan toksin Panton-Valentine Leukodin (PVL). PVL sering terdapat pada pasien yang imunokompeten tanpa adanya faktor risiko yang dapat diidentifikasi. Strain CA-MRSA yang mengandung PVL ini mempunyai kemampuan untuk menimbulkan kerusakan jaringan dan leukosit yang parah. PVL masuk melalui lubang pada membran sel kemudian menghasilkan lesi pada permukaan kulit dan di dalam mukosa saluran pernapasan (Anderson *et al*, 2007).

Tampilan klinis strain CA-MRSA yang mengandung PVL biasanya tampak sebagai SSTI, seperti bisul, jerawat, furunkel, dan abses kulit. Namun saat ini telah dilaporkan adanya infeksi yang invasif seperti necrotizing pneumonia dan fasciitis, osteomielitis, artritis septik, toxic shock syndrome, bakteremia,

limfadenitis, dan miositis. Walaupun jarang, CA-MRSA juga dihubungkan dengan community-acquired pneumonia (CAP) yang biasanya ditemukan setelah influenza. Salah satu cara untuk membedakan pneumonia yang disebabkan oleh CA-MRSA adalah terjadinya hemoptisis setelah syndrom influenza (Anderson *et al*, 2007).

Kultur bakteri aerobik harus didapatkan pada keadaan ketika 1) SSTI yang disebabkan oleh strain resisten methicillin atau sensitif methicillin tidak dapat dibedakan dengan gambar klinik, 2) dibutuhkan identifikasi dari spesies dan sensitifitas antibiotiknya yang akan membantu pemilihan antibiotik. Kultur harus diperoleh dari luka yang telah kering, pus yang diaspirasi dari infeksi jaringan lunak, dan aspirasi dari cairan yang diduga terinfeksi. Kultur darah harus dilakukan pada pasien yang demam dengan kecurigaan infeksi MRSA, dan jika diperlukan pada pasien pengguna obat injeksi atau endokarditis yang secara klinis juga dicurigai (Spencer & Chukwuma. 2015)

Hasil kultur yang positif baik dari darah dan cairan tubuh yang steril (misalnya cairan sendi, pleura, dan serbrospinal) merupakan diagnosis pasti dari infeksi MRSA. Kultur positif dari sumber-sumber yang non-steril (misalnya dari drainase luka dan luka terbuka) merupakan indikasi adanya infeksi bakteri atau kolonisasi dan harus diinterpretasikan dalam bentuk gejala klinik pasien (Spencer & Chukwuma. 2015)

2.2.4 Mekanisme Resisten

Resistensi antibiotik dapat terjadi karena beberapa hal, yaitu : (Stephen *et al*, 2005)

1. Bakteri dapat memproduksi enzim yang dapat menghancurkan antimikroba sebelum mencapai targetnya atau memodifikasi obat tersebut sehingga tidak mengenal target.
2. Dinding sel bakteri menjadi tidak permeabel terhadap agen mikroba
3. Terjadinya mutasi pada tempat reseptor antimikroba
4. Pompa efflux yang dimiliki oleh bakteri dapat mengeluarkan agen antimikroba dari sel sebelum mencapai target
5. Jalur metabolik spesifik dari bakteri yang mengalami perubahan genetik jadi agen antimikroba tidak dapat memberikan efek.

Penyebaran resistensi antimikroba dapat terjadi secara vertikal (diturunkan ke generasi berikutnya) atau yang lebih sering terjadi adalah secara horizontal dari sel donor. Penyebaran resistensi berdasarkan perpindahannya dibagi menjadi beberapa cara, yaitu : (Chambers, 2012)

1. Mutasi adalah proses terjadinya resistensi akibat perubahan pada gen mikroba yang mengubah binding site antimikroba, protein transport, protein yang mengaktifkan obat dan lain-lain. Proses ini terjadi secara spontan, acak dan tidak langsung ada tidaknya paparan terhadap antimikroba.
2. Transduksi adalah terjadinya resistensi bakteri akibat DNA dari bakteriofag (virus yang menyerang bakteri) yang membawa DNA dari kuman lain yang resisten terhadap antibiotik tertentu. *Staphylococcus aureus* merupakan mikroba yang sering mentransfer resistensi dengan cara tersebut.

3. Transformasi merupakan transfer resistensi yang terjadi karena mikroba mengambil DNA bebas yang membawa sifat resistensi dari sekitarnya.
4. Konjugasi merupakan transfer resistensi langsung antara dua mikroba yang diperantarai pilus seks. Proses ini dapat terjadi pada bakteri dengan sepsis yang berbeda dan biasanya terjadi pada bakteri gram negatif.

MRSA merupakan *Staphylococcus aureus* yang mampu melawan methicilin dan golongan beta laktam lainnya. Pada . *Staphylococcus aureus* terjadi adanya perubahan pada PBP yang berafinitas rendah terhadap peningkatan dengan antibiotik beta laktam sehingga organisme tersebut tidak terpengaruh kecuali pada konsentrasi obat yang relatif tinggi yang sering kali tidak tercapai secara klinis (Chambers, 2012)

2.2.5 Diagnosis Laboratorium

Salah satu atau lebih dari spesimen berikut harus dikumpulkan untuk konfirmasi diagnosis: (Greenwood, 2012)

1. Nanah dari abses, luka, luka bakar, dll, yang banyak dipilih untuk penyeka.
2. Dahak dari pasien dengan pneumonia (misalnya pasca-influenza atau pneumonia terkait ventilator); bronchoscopic spesimen semakin digunakan pada pasien kritis.
3. Tinja atau muntah dari pasien dengan keracunan makanan dicurigai atau sisa-sisa makanan terlibat
4. Darah dari pasien yang diduga infeksi aliran darah (bakteremia), seperti syok septik, osteomyelitis atau endokarditis
5. Pertengahan aliran urin dari pasien dengan dugaan sistitis atau pielonefritis

6. Anterior hidung dan perineum penyeka (dibasahi dalam garam atau air steril) dari yang diduga operator; penyeka hidung harus digosok pada gilirannya atas dinding anterior dari kedua lubang hidung.

Karakteristik gugus kokus gram positif sering dapat ditunjukkan dengan mikroskop dan organisme dikultur mudah pada agar darah dan sebagian besar media lainnya tabung atau tes koagulase dilakukan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dari spesies negatif koagulase. Metode molekuler seperti polymerase chain reaction (PCR) telah dikembangkan namun masih sedang dievaluasi untuk menentukan peran mereka dalam praktek laboratorium rutin. (Greenwood, 2012)

2.2.6 Identifikasi MRSA

a. Metode dilusi (dilution methods)

Dilusi agar (agar dilution). Uji ini menggunakan media Mueller-Hinton (MH) atau agar Columbia dengan 2% NaCl dan inokulum 10^4 cfu/mL akan terlihat jelas perbedaan resistensi diantara strain-strain *Staphylococcus aureus* (Brown et al, 2005). Menurut British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC), kedua media ini dapat digunakan kemudian dilakukan inkubasi pada 30°C selama 24 jam. Pada metode BSAC ini, minimum inhibitory concentration (MIC) methicillin ≤ 4 mg/L mengindikasikan bahwa strain *S.aureus* ini masih rentan/sensitif terhadap methicillin, sedangkan MIC > 4 menunjukkan resisten (Brown et al., 2005). Sedangkan menurut National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), yang sekarang dikenal sebagai Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), metode ini hanya menggunakan MH sebagai medianya, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 33-35°C. Hasil

MIC methicillin ≤ 2 mg/L mengindikasikan bahwa strain *S. aureus* ini masih rentan/sensitif terhadap methicillin, sedangkan MIC > 2 menunjukkan resisten (Brown *et al*, 2005).

Mikrodilusi kaldu (broth microdilution)

Metode NCCLS ini menggunakan kaldu MH dengan 2% NaCl sebagai media, sebuah inoculum 5×10^5 cfu/mL dan diinkubasi pada suhu 33-35°C selama 24 jam. Metode ini banyak digunakan secara luas (Brown *et al*, 2005).

b. Metode penapisan agar (Agar screening method)

Metode ini direkomendasikan oleh NCCLS untuk penapisan isolasi koloni pada mediarutin dan untuk konfirmasi akan kecurigaan adanya resistensi pada uji difusi piringan (disc diffusion tests). Pada metode ini densitas *S. aureus* dipertahankan pada 0,5 standar McFarland, menggunakan media MH yang mengandung 4% NaCl dan 6 mg/L oxacillin. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C atau kurang. Adanya pertumbuhan mengindikasikan resistensi (Brown *et al*, 2005).

c. Piringan difusi (disc diffusion)

Sekarang ini uji piringan difusi sefoksitin lebih banyak direkomendasikan dibandingkan dengan oksasilin. Hal ini dikarenakan pada sefoksitin tidak diperlukan media dan temperatur inkubasi khusus, serta tidak terpengaruh adanya hiper-produksi dari penisilinase sehingga tidak terjadi positif palsu MRSA (Brown *et al*, 2005).

d. Aglutinasi lateks (latex agglutination)

Metode ini mengekstraksi PBP2a (penicillin binding protein) dari suspensi koloni dan deteksinya oleh aglutinasi dengan partikel lateks yang dilapisi oleh

antibodi terhadap PBP2a. Isolat yang memproduksi sedikit PBP2a akan menimbulkan reaksi aglutinasi yang lemah atau lambat. Uji ini sangat sensitif dan spesifik terhadap *S. aureus*, namun tidak cocok pada pertumbuhan koloni yang mengandung NaCl. Disamping itu pula metode sangat cepat (hanya ± 10 menit untuk 1 uji) dan tidak memerlukan alat khusus (Brown *et al*, 2005).

e. Metode molekuler (molecular methods)

Identifikasi MRSA langsung dari kultur darah. Sebagian besar laboratorium mikrobiologi klinik, identifikasi kultur darah yang positif mengandung kokus gram positif (Gram-positive cocci in cluster [GPCC]) menggunakan sistem otomatis di bawah mikroskop, dilanjutkan dengan kultur secara konvensional untuk mendeteksi adanya MRSA. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menilai penggunaan metode molekuler secara langsung mendeteksi MRSA dengan mikroskop pada GPCC yang positif. Metode ini merupakan diagnosis cepat untuk MRSA dan dapat menentukan terapi yang tepat. Beberapa metode ini menggunakan dasar gel dan real-time PCR, penyelidikan DNA, serta penyelidikan asam nukleat peptida (peptide nucleic acid). Kelemahan metode ini adalah memerlukan alat-alat khusus dan seorang yang sudah ahli. Salah satu alat yang menggunakan metode ini adalah “EVIGENE kit” (Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark). Alat ini berdasarkan pada colorimetric gene probe hybridization assay untuk spesifik stafilokokus 16S rRNA, *mecA* dan *nuc* gen dalam bentuk strip. Alat ini dapat mengidentifikasi MRSA pada kultur darah positif dalam 7 jam, tanpa memerlukan kultur konvensional atau kemungkinan adanya kontaminasi silang seperti pada PCR (Brown *et al*, 2005).

2.2.7 Deteksi MRSA dalam Sampel Screening

2.2.7.1 Pendekatan Konvensional

a. Padat media agar.

Agar kromogenik baru-baru dikembangkan untuk mengidentifikasi *S. aureus* telah digunakan untuk mendeteksi MRSA. Agars kromogenik dengan berbagai agen selektif memiliki sensitivitas variabel dan spesifisitas untuk skrining MRSA bila dibandingkan dengan beberapa media yang lebih tradisional, tapi kinerja baik ketika cefoxitin digunakan sebagai agen selektif. Ada beberapa media kromogenik baru-baru dipasarkan mengandung cefoxitin (mis MRSA Pilih, Bio-Rad; CHROMagar MRSA, BioConnections; MRSA ID, BIOMERIEUX) dan produsen mengklaim kinerja yang baik dengan proporsi yang tinggi dari positif terdeteksi setelah inkubasi selama 24 jam. (Brown *et al*, 2005)

b. Pengayaan.

Kaldu pengayaan telah sering digunakan untuk meningkatkan sensitivitas skrining dengan memungkinkan kecil jumlah MRSA tumbuh selama inkubasi semalam sebelum subkultur pada media screening agar. Kaldu pengayaan juga telah banyak digunakan sebagai 'multibroths'. (Brown *et al*, 2005)

2.2.7.2 Metode Molekuler

Sejumlah metode molekul yang berbeda untuk deteksi cepat MRSA dalam sampel skrining telah dijelaskan dalam lalu 10 tahun. Mayoritas ini telah mengandalkan multiplexing PCR primer untuk mendeteksi gen yang mengidentifikasi strain *S. aureus* (nuc dan fem sering digunakan) dan *mecA*.

Dalam rangka untuk meningkatkan kecepatan diagnosis, real-time PCR baru-baru ini diterapkan untuk deteksi MRSA. Namun, jika langsung digunakan pada spesimen bukan pada bakteri berbudaya, pengujian ini mampu membedakan antara kultur campuran dari MSSA dan MRCoNS. (Brown *et al*, 2005).

2.2.8 Pengobatan untuk MRSA pada Dewasa dan Anak

Menurut The Infectious Disease Society of America (IDSA) terdapat beberapa panduan pengobatan untuk infeksi MRSA pada dewasa dan anak, yaitu :

a. Kultur

1. Kultur dari abses dan SSTIs purulen lain ketika:

- terapi antibiotik yang digunakan
- pasien datang dengan infeksi lokal yang parah atau tanda-tanda dan gejala penyakit sistemik
- cluster atau pecahnya SSTIs diduga abses kulit
- Insisi dan drainase adalah pengobatan utama.

b. Untuk abses sederhana atau bisul

1. Insisi dan drainase adalah pengobatan utama, tetapi data tambahan diperlukan untuk memperjelas peran antibiotik untuk jenis infeksi.
2. Terapi antibiotik direkomendasikan untuk abses berhubungan dengan berat atau penyakit yang luas, perkembangan yang cepat terkait selulitis, tanda-tanda dan gejala penyakit sistemik, terkait co-morbiditas atau immunosupresi, lansia, abses di daerah yang sulit untuk mengalirkan (wajah misalnya, tangan, alat kelamin), terkait septik flebitis dan kurangnya respon terhadap insisi dan drainase.

- c. Untuk pasien rawat jalan dengan purulen selulitis (drainase purulen atau eksudat dalam sebuah abses)
 1. Terapi empiris untuk CA MRSA dianjurkan hasil kultur yang tertunda.
 2. Terapi empiris untuk infeksi yang disebabkan oleh streptokokus β -hemolitik mungkin tidak diperlukan
 3. 5-10 hari terapi dianjurkan tetapi harus didasarkan pada respon klinis pasien plating
- d. Untuk pasien rawat jalan dengan selulitis bernanah (selulitis tanpa purulen drainase atau eksudat dan tidak ada terkait abses)
 1. Terapi empiris untuk infeksi yang disebabkan oleh streptokokus β -hemolitik dianjurkan.
 2. Terapi empiris untuk CA MRSA dianjurkan pada pasien yang tidak berespon terhadap terapi beta-laktam dan dapat dianggap sebagai toksisitas sistemik.
 3. 5-10 hari terapi dianjurkan tetapi harus berdasarkan respon klinis pasien.
- e. Terapi antibiotik empiris pada pasien rawat jalan dengan SSTIs
 1. Pilihan antibiotik oral termasuk:
 - Klindamisin
 - Trimetoprim-sulfametoksazol (TMP-SMX)
 - Tetrasiklin sebuah (doxycycline atau minocycline)
 - Linezolid
 2. Jika cakupan untuk kedua streptokokus β -hemolitik dan CA MRSA yang diinginkan, pilihan antibiotik termasuk:
 - Klindamisin saja

- Baik TMP-SMX atau tetrasiklin dalam kombinasi dengan β -laktam seperti amoksisilin
 - Linezolid saja
3. Penggunaan rifampin sebagai agen tunggal atau sebagai tambahan untuk pengobatan SSTIs tidak direkomendasikan.
- f. Pengobatan pasien dirawat di rumah sakit dengan komplikasi SSTIs (infeksi jaringan lunak lebih dalam, infeksi luka bedah / trauma, abses besar, selulitis, ulkus terinfeksi dan luka bakar)
1. Selain debridement dan penggunaan antibiotik spektrum luas, terapi empiris untuk MRSA harus dipertimbangkan hasil kultur tertunda.
 2. Pilihan antibiotik empiris meliputi:
 - vankomisin IV
 - lisan atau IV linezolid 600 mg dua kali sehari
 - daptomycin 4mg / kg / dosis IV sekali sehari
 - telavancin 10 mg / kg / dosis IV sekali sehari
 - Ceftaroline 600mg IV setiap 12 jam
 - klindamisin 600 mg IV atau lisan tiga kali sehari
 - β -laktam seperti cefazolin dapat dipertimbangkan pada pasien rawat inap dengan selulitis bernanah, dengan modifikasi untuk terapi MRSA-aktif jika tidak ada respons klinis
 3. 7-14 hari terapi dianjurkan tetapi harus berdasarkan pada respon klinis pasien.
- g. Sebuah. pertimbangan Pediatric

1. Untuk anak-anak dengan infeksi kulit ringan seperti impetigo atau lesi kulit infeksi sekunder (mis eksim, bisul, luka), mupirocin 2% salep topikal dapat digunakan.
2. Tetrasiklin tidak boleh digunakan pada anak usia <8 tahun.
3. Untuk anak-anak dirawat di rumah sakit dengan komplikasi SSTIs:
 - vankomisin dianjurkan
 - jika pasien stabil tanpa bakteremia berlangsung atau infeksi intravaskular, terapi empiris dengan klindamisin 10-13 mg / kg / dosis IV setiap 6-8 jam (untuk mengelola 40 mg / kg / hari) merupakan pilihan jika tingkat resistensi clindamycin lokal rendah (misalnya kurang dari 10%) dengan transisi ke terapi oral jika strain rentan.
 - linezolid 600 mg IV atau lisan dua kali sehari untuk anak usia ≥ 12 tahun dan 10 mg / kg / dosis IV atau lisan setiap 8 jam untuk anak usia <12 tahun adalah pengobatan alternatif.

2.2.9 Uji Kepekaan Terhadap Antimikroba (In Vitro)

2.2.9.1 Metode Dilusi Tabung

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat antimikroba. Prinsip dari metode dilusi yaitu: menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan antimikroba yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung.

Konsentrasi terendah antimikroba pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari antimikroba. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah antimikroba pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari mikroba terhadap bakteri uji (Jawetz & Adelberg, 2008).

2.2.9.2 Metode Difusi Cakram

Tes ini dikerjakan dengan menggunakan cakram kertas saring yang mengandung bahan antimikroba yang telah ditentukan kadarnya. Cakram tersebut kemudian ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah diberi bakteri uji, kemudian diinkubasikan pada suhu 37° selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati dan dihitung diameter area hambatan yang terbentuk sebagai daya hambat bahan antimikroba terhadap bakteri uji. Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan bahan antimikroba, apakah isolate mikroba sensitif atau resisten terhadap obat dapat dilakukan dua cara yaitu cara Kirby Bauer dan Joan Stokes. Cara Kirby Bauer adalah dengan membandingkan diameter area jernih (Zona hambatan) disekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS. Dengan tabel NCCLS dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif-intermediet, atau resisten. Sedangkan cara Joan Stokes yaitu dengan membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan *isolate* bakteri yang diuji.

Pada cara Joan Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar (Jawetz, 2008).

2.3 Cengkeh

2.3.1 Pengertian dan Morfologi

Cengkeh (*Syzygium aromaticum*, syn. *Eugenia aromaticum*) adalah tangkai bunga kering beraroma dari suku Myrtaceae. Cengkeh adalah tanaman asli Indonesia, banyak digunakan sebagai bumbu masakan pedas di negara-negara Eropa, dan sebagai bahan utama rokok kretek khas Indonesia. Cengkeh juga digunakan sebagai bahan dupa di Tiongkok dan Jepang. Minyak cengkeh digunakan di aromaterapi dan juga untuk mengobati sakit gigi. Cengkeh ditanam terutama di Indonesia (Kepulauan Banda) dan Madagaskar, juga tumbuh subur di Zanzibar, India, Sri Lanka (Disbun, 2010)



Gambar 2.3 Cengkeh tipe Zanzibar (Disbun,2010)

Menurut taksonominya, cengkeh diklasifikasikan sebagai Kingdom Plantae (Tumbuhan), Subkingdom Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh), Super Divisi Spermatophyta (Menghasilkan biji), Divisi Magnoliophyta

(Tumbuhan berbunga), Kelas Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil), Sub Kelas Rosidae, Ordo Myrtales, Famili Myrtaceae (suku jambu-jambuan), Genus *Syzygium*, Spesies *Syzygium aromaticum* (Merril & Perry, 1983)

Tanaman ini berbentuk pohon, tingginya dapat mencapai 20-30 m, dan dapat berumur lebih dari 100 tahun. Tajuk tanaman cengkeh umumnya berbentuk kerucut, piramida atau piramida ganda, dengan batang utama menjulang ke atas. Cabang-cabangnya banyak dan rapat, pertumbuhannya agak mendatar dengan ukuran yang relatif kecil jika dibandingkan batang utamanya. Daunnya kaku, berwarna hijau atau hijau kemerahan dan berbentuk elips dengan kedua ujung runcing. Daun-daun ini biasanya keluar per periode. Dalam satu periode, ujung ranting akan mengeluarkan satu set daun yang terdiri dari lima pasang. Masing-masing pasangan terdiri atas dua daun yang terletak saling berhadapan. Ujung ranting yang telah menghasilkan bunga, biasanya tidak menghasilkan bunga lagi pada musim berikutnya. Apabila semua ujung ranting telah berbunga, bisa dipastikan pada musim bunga berikutnya tanaman ini hanya mampu menghasilkan sedikit bunga. Pola pembungaan seperti ini menyebabkan siklus panen besar dan panen kecil yang berulang 3-4 tahun sekali. (Disbun, 2010)

Tanaman cengkeh mulai berbunga pada umur 4,5 – 8,5 tahun, tergantung dari jenis dan lingkungannya. Bakal bunga biasanya keluar setelah pasangan daun kelima dari satu set daun termuda telah dewasa atau mencapai ukuran normal (fase ini disebut fase mepet tua). Bakal bunga ini kadang-kadang sudah keluar setelah daun pertama, kedua, atau ketiga tidak lagi membentuk bakal daun, tetapi langsung membentuk bunga. Fase ini disebut

fase mepet muda. Bakal bunga ini bisa dibedakan dari bakal daun . Bakal bunga berwarna hijau, berujung tumpul dan ruas dibawahnya sedikit membengkak, sedang bakal daun berwarna merah dan berujung lancip. Bakal bunga keluar pada awal musim hujan (Oktober-Desember). Bila bakal bunga mulai keluar dan kekurangan sinar matahari, mendung terus menerus, atau terjadi penurunan suhu malam sampai dibawah 17°C, maka bakal bunga akan berubah menjadi bakal daun sehingga ranting tersebut gagal menghasilkan bunga. Hal semacam ini pun bisa terjadi pada saat bakal bunga mulai membentuk cabang. Apabila lingkungannya baik, bakal bunga akan berkembang membentuk cabang-cabangnya dalam waktu 1-2 bulan. Bila cabang-cabang telah terbentuk, dari ujung cabang terakhir akan keluar kuncup-kuncup bungan yang berukuran kecil. Fase ini disebut sebagai fase mata yuyu. Selanjutnya, dalam waktu 5-6 bulan setelah itu (April-Juli), bunga telah matang dan siap untuk dipetik. Bunga cengkeh yang tidak dipetik pada saat matang, dalam waktu beberapa hari akan mekar (biasanya pada pagi atau sore hari). Beberapa saat sebelum atau setelah mekar, bunga akan segera mengadakan penyerbukan dengan cara penyerbukan sendiri atau silang melalui bantuan angin atau serangga. Bagian tanaman cengkeh yang paling banyak dimanfaatkan untuk berbagai keperluan adalah bunganya. Dalam perkembangannya pemanfaatan cengkeh menjadi lebih luas, yaitu sebagai rempah-rempah, bahan baku parfum, dan sumber eugenol. (Disbun, 2010)

2.3.2 Jenis-jenis Cengkeh

Di Indonesia banyak sekali ditemukan tipe-tipe cengkeh yang satu sama liannya sulit sekali untuk dibedakan. Misalnya cengkeh tipe ambon, tipe

raja, tipe cengkeh sakit, tipe indari, tipe dokiri, cengkeh afo dan tauro. Perkawinan antara berbagai tipe ini membentuk tipe-tipe cengkeh di Indonesia sangat sulit digolongkan. (Soenardi, 1981)

Cengkeh di Indonesia dapat digolongkan menjadi empat jenis yaitu si putih, si kotok, zanzibar, dan ambon. Dengan pertimbangan bahwa tipe si kotok mirip dengan zanzibar dan si putih mirip dengan tipe ambon, maka Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri saat ini hanya memusatkan perhatian pada tipe zanzibar dan tipe ambon. (Soenardi, 1981)

Menurut Soenardi, 1981, sifat masing-masing tipe cengkeh itu adalah sebagai berikut :

1. Cengkeh si putih

Daun cengkeh si putih berwarna hijau muda (kekuningan) dengan helaian daun relatif lebih besar. Cabang-cabang utama yang pertama mati, sehingga percabangan seolah baru dimulai pada ketinggian 1,5-2 m dari permukaan tanah. Cabang dan daun jarang sehingga kelihatan kurang rindang. Mahkota berbentuk bulat atau agak bulat.

2. Cengkeh si kotok

Daun cengkeh si kotok mulanya berwarna hijau muda kekuningan kemudian berubah menjadi hijau tua dengan permukaan atas licin dan mengkilap. Helaian daunnya agak langsing dengan ujung agak membulat. Cabang utama yang pertama hidup, sehingga percabangan kelihatan rendah sampai permukaan tanah. Ruas daun dan cabang rapat merimbun. Mahkota bunga berbentuk piramid atau silindris. Bunganya relatif kecil dibanding dengan si putih, bertangkai panjang, antara 20-50

kuntum pertandan. Mulai berbunga pada umur 6,5 – 8,5 tahun. Bunganya berwarna hijau ketika masih muda, menjadi kuning saat matang dengan pangkal berwarna merah. Adaptasi dan produksinya lebih baik daripada si putih tetapi lebih rendah dari zanzibar, dengan kualitas sedang.

3. Cengkeh tipe zanzibar

Tipe ini merupakan tipe cengkeh terbaik. Sangat dianjurkan karena daya adaptasi yang luas, produksi tinggi, dan berkulitas baik. Daun, mulanya berwarna ros/merah muda, kemudian berubah menjadi hijau tua mengkilap pada permukaan atas, dan hijau pucat memudar pada permukaan bawah. Pangkal terlebar tepat di tengah. Ruas daun dan percabangan sangat rapat merimbun. Cabang utama yang pertama hidup sehingga percabangannya rapat dengan permukaan tanah dengan sudut-sudut cabang lancip (kurang dari 45°), sehingga mahkotanya berbentuk kerucut. Tipe ini mulai berbunga pada umur 4,5 – 6,5 tahun sejak disemaikan. Bunganya agak langsing, bertangkai pendek, ketika muda berwarna hijau dan menjadi kemerahan setelah matang petik. Percabangan bunganya banyak dengan jumlah bunga bisa lebih dari 50 kuntum per tandan.

4. Cengkeh tipe ambon

Tipe cengkeh ini tidak dianjurkan untuk ditanam, karena produksi dan daya adaptasinya rendah, serta kualitas hasil yang kurang baik. Daun yang muda berwarna ros muda atau hijau muda (lebih muda daripada zanzibar). Daun yang tua permukaan atasnya berwarna hijau tua dan kasar, sedang permukaan bawah berwarna hijau keabu-abuan. Daunnya

agak lebar kirakira 2/3 kali panjangnya. Cabang dan daunnya jarang sehingga tampak kurang rimbun. Mahkota agak bulat atau bulat, bagian atas agak tumpul, sedang bagian bawahnya agak meruncing. Cabang-cabang utamanya mati, sehingga seolah-olah percabangannya mulai pada ketinggian 1,5 – 2 m. Tipe ini mulai berbunga pada umur 6,5 – 8,5 tahun sejak disemaikan. Bunganya gemuk dan bertangkai panjang, berwarna hijau saat muda dan kuning saat matang petik. Percabangan bunganya sedikit dengan jumlah bunga kurang dari 15 kuntum per tandan

Pada penelitian ini, cengkeh yang dipakai adalah cengkeh tipe zanzibar karena mengandung antibakteri eugenol lebih tinggi dari pada tipe cengkeh yang lain yaitu sekitar 76%. (Supriyadi *et al*, 2012)

2.3.3 Kandungan dan Manfaat

Tanaman cengkeh dari bunga batang dan daunnya mempunyai kandungan yang berbeda-beda namun secara umum tanaman cengkeh memiliki beberapa manfaat sebagai analgesik, antiemetik, antijamur, antiseptik, antiinflamasi dan salah satunya sebagai antibakteri (Pramod, 2010). Berikut hasil analisa kandungan kimia tanaman cengkeh.

Tabel 2.3 Kandungan Kimia Tanaman Cengkeh

No	Kandungan Kimia	Bunga	Daun	Batang
1	Eugenol	+	+	+
2	Tannin	+	+	-
3	Saponin	+	+	-
4	Flavanoid	+	+	+
5	Alkaloid	+	-	-
6	Phenol	+	-	-

(Oshomoh *et al*, 2015), (Sohilait, 2015), (Fitrilia *et al*, 2015), (Shrivastava *et al*, 2004)

2.3.3.1 Eugenol

Eugenol merupakan cairan tidak berwarna atau berwarna kuning-pucat, dapat larut dalamalkohol, eter dan kloroform. Senyawa eugenol mempunyai rumus molekul $C_{10}H_{12}O_2$ serta mengandung beberapa gugus fungsional yaitu alil ($-CH_2-CH=CH_2$), fenol ($-OH$) dan metoksi($-OCH_3$). Senyawa ini mempunyai bobot molekul 164,20 dan titik didih $250 -255^{\circ}C$ (Towaha, 2012). Eugenol merupakan komponen utama yang terkandung dalam minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum*L.), dengan kandungan dapat mencapai 70-96% walaupun minyak cengkeh mengandung beberapa komponen lain seperti eugenol asetat dan β -caryophyllene (Alma *et al.*, 2007)

Eugenol adalah senyawa hidrofobik yang dengan mudah melewati dan merusak dinding sel bakteri gram negatif yang memiliki konsentrasi lipid yang tinggi (Maryati, 2007). Sifat antimikroba dari senyawa eugenol dapat di aplikasikan pada pelapisan karton pengemas makanan, dimana campuran 1,25 -2,5% eugenol cengkeh dalam larutan pati hidrofobik pelapis karton dapat

menghambat pertumbuhan bakteri patogen penyebab kerusakan pangan seperti *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* (Vanit et al., 2010)

2.3.3.2 Tanin

Tanin merupakan polifenol tanaman yang larut dalam air dan dapat menggumpalkan protein. Apabila tanin kontak dengan lidah maka reaksi pengendapan protein ditandai dengan rasa sepat atau astringen. Tanin terdapat pada berbagai tumbuhan berkayu dan herba, berperan sebagai pertahanan tumbuhan dengan cara menghalangi serangga dalam mencerna makanan. Tanin dapat menurunkan kemampuan mencerna makanan dengan cara menurunkan aktifitas enzim pencernaan (protease dan amilase) serta mengganggu aktifitas protein usus. Serangga yang memakan tumbuhan dengan kandungan tanin tinggi akan memperoleh sedikit makanan, akibatnya akan terjadi penurunan pertumbuhan. Respon jentik terhadap senyawa ini adalah menurunnya laju pertumbuhan dan gangguan nutrisi. Tanin yang terkandung dalam cengkeh merupakan basis aktivitas antibakteri dengan merusak membran sel yang menyebabkan kebocoran intraselular. Akibat terganggunya permeabilitas dan rusaknya fungsi integritas membran sitoplasma, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Smullen et al, 2007)

2.3.3.3 Saponin

Senyawa saponin adalah glikosida dari triterpene dan steroid yang larut dalam air dan mempunyai kemampuan membentuk buih sabun bila dikocok dengan air pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan

hemolisis sel darah merah.. Saponin dapat berperan sebagai antibakteri. Saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga dapat mengubah struktur dan fungsi membran, menyebabkan denaturasi protein membran sehingga membran sel akan rusak dan lisis. Saponin mempunyai molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang pada akhirnya menyebabkan kehancuran kuman. (Sirait, 2007)

2.3.3.4 Flavanoid

Flavanoid adalah salah satu jenis senyawa yang bersifat racun/aleopati yang merupakan persenyawaan dari gula yang terikat dengan flavon. Flavanoid mempunyai sifat khas yaitu baunya yang sangat tajam, rasa pahit, dapat larut dalam air dan pelarut organik, serta mudah terurai dalam temperatur tinggi. Flavanoid merupakan senyawa pertahanan tumbuhan yang dapat bersifat menghambat makan serangga dan bersifat toksik. Flavanoid mempunyai sejumlah kegunaan. Pertama, terhadap tumbuhan, yaitu sebagai pengatur tumbuhan, pengatur fotosintesis, kerja antimikroba dan antivirus. Kedua, terhadap manusia, yaitu sebagai antibiotik terhadap penyakit kanker dan ginjal, menghambat perdarahan. Ketiga, terhadap serangga, yaitu sebagai daya tarik serangga untuk melakukan penyerbukan. Keempat, kegunaan lainnya adalah sebagai bahan aktif dalam pembuatan insektisida nabati. (Dinata, 2009)

Flavanoid dan tanin mampu merusak susunan dan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat aktivitas dan biosintesis enzim-enzim

spesifik untuk metabolisme bakteri. Aktivitas flavonoid dilakukan dengan merusak dinding sel yang terdiri atas lipid dan asam amino yang akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Selain itu flavonoid mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga struktur tersier protein terganggu dan protein tidak dapat berfungsi lagi maka terjadi denaturasi protein dan asam nukleat. Denaturasi tersebut menyebabkan koagulasi protein dan mengganggu metabolisme dan fungsi fisiologis bakteri. Metabolisme yang terganggu akan mengakibatkan rusaknya sel secara permanen karena tidak tercukupinya kebutuhan energi (Jawetz, et al.2001).

2.3.3.5 Alkaloid

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan pembentukan *ion channel* pada membran mikroba atau hambatan kompetitif adhesi protein mikroba ke reseptor polisakarida inang, mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Darsana, 2012). Mekanisme lain antibakteri alkaloid yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkalator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Karou, 2005).

2.3.3.6 Phenol

Mekanisme antibakteri fenol dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan

membran sitoplasma sebab keduanya tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel, sehingga menjadi lisis (Ahmed, 2007).

2.4 Penelitian yang Mendukung

Pada penelitian yang dilakukan oleh Oshomoh, Idu dan Udinyiwe (2015) di Nigeria, didapatkan hasil ekstrak bunga cengkeh dapat menghambat *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Rhizopus oryzae* dan *Aspergillus flavus* pada konsentrasi (KHM) 6,25 mg/ml dan membunuh pada konsentrasi (KBM) 25 mg/ml pada *Escherichia coli*, dan 50 mg/ml pada *Klebsiella pneumoniae*.

Penelitian serupa yang dilakukan oleh Nzeako, Zahra S N dan Zahra (2006), didapatkan zona inhibisi yang dihasilkan oleh minyak cengkeh terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 1,56% (64) pada NAP dan 0,78% (128) pada metode dilusi.

